Die Darstellung des Histamins in den Mastzellen der normalen menschlichen Nasenschleimhaut

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Ute Kirchberger

Saarbrücken

1971

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar (Direktor: Professor Dr. med. P. FALK)

Die Darstellung des Histamins in den Mastzellen der normalen menschlichen Nasenschleimhaut

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
Zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
Ute Kirchberger
geb.am 12.7.1945

Dekan: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
Referent: Professor Dr. med. Dr. med. dent. K. MÜSEBECK

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Dez. 1971

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	1
II	Literatur	3
III	Material und Methodik	13
IV	Ergebnisse	16
V	Diskussion der Ergebnisse	24
VI	Zusammenfassung	31
VII	Literaturverzeichnis	33

I. Einleitung

Innerhalb des Respirationstraktes ist die Nase ein reaktionsstarkes Organ, deren Schleimhaut den Inhalationsallergenen in starkem Maße ausgesetzt ist. In der relativ häufig allergisch veränderten Nasenschleimhaut werden vermehrt Mastzellen angetroffen. Die Mastzellen enthalten, nach Tierart verschieden, Histamin, Serotonin und Heparin als Wirkstoffe. Unter diesen Wirkstoffen ist besonders das Histamin innerhalb des Reaktionsablaufes bei Allergie bekannt geworden. Mastzellendichte und Histamingehalt gehen etwas parallel. Mit üblicher morphologischer Untersuchungstechnik, wie Hämatoxillin-Eosin und andere, ist die Beurteilung der Mastzellen oft schwierig. Nicht jede Zelle, die eine positive Reaktion auf saure Mucopolysaccharide gibt, kann als Mastzelle angesehen werden. Die bisherigen Versuche, Mastzellen durch ihren Histamingehalt zu charakterisieren, scheiterten an unzulänglicher morphologischer Technik. Der Fluoreszenznachweis des Histamins verspricht zuverlässigere Resultate, ist aber in der Nasenschleimhaut nur von MOOTZ und MÜSEBECK (1969) ausgeführt worden. Die kürzlich erst erhobenen Befunde beschränken sich auf qualitative Vergleiche zwischen Histamingehalt normaler und allergisch veränderter Nasenschleimhaut.

Vorliegender Arbeit liegt die Fragestellung zugrunde, in welchen Abschnitten der menschlichen Nasenschleimhaut

(Operationsmaterial) histaminhaltige Zellen bevorzugt angetroffen werden und ob ein bestimmtes Verteilungsmuster festzustellen ist.

II. Literatur

1877 entdeckte EHRLICH granulahaltige Zellen, die er durch Anfärben mit dem basischen Farbstoff Dahlia von der Gruppe der von WALDEYER (1875) beschriebenen Plasmazellen abgrenzen konnte. Da er die Granula als aufgenommene Nahrungsstoffe deutete, nannte er sie "Mastzellen". Nach ihrem Vorkommen teilte er sie in zwei Typen ein: die Gewebs- und die Blutmastzelle. Sie enthalten beide cytoplasmatische Granula, die sich mit basischen Farbstoffen metachromatisch färben. Während die eine jedoch aus dem Gewebe stammt, entsteht die andere im Knochenmark. Um Verwechslungen zu vermeiden, nennt man im englischen Schrifttum die Blutmastzelle "Blood-Basophil". Der Begriff Mastzelle wird fast ausschließlich auf die Gewebsmastzelle angewandt. SELYE (1965) definierte diese Zelle nach Durchsicht von über 8500 Arbeiten wie folgt: "Mastzellen kommen im Bindegewebe vor und enthalten cytoplasmatische Granula, die sich unter gewöhnlichen histologischen Bedingungen metachromatisch färben". Diese Definition, sie entspricht im Prinzip der klassischen von EHRLICH, stellt die vermutlich exakteste dar, die man nach heutigem Wissensstand geben kann. Sie ist dennoch nicht ganz zufriedenstellend; so bemängelt zum Beispiel NIEBAUER (1968), daß weder die Histiocyten und Fibroblasten, die metachromatische Granula phagocytieren können, abgegrenzt werden, noch, daß diejenigen Mastzellen, die ihre Granula ausgestoßen haben,

erfaßt werden (sog. "ghostcells", NIEBAUER 1968).
Die Mastzelle (steht in der Folge immer für Gewebsmastzelle) und ihre Funktion steht auch heute noch im Mittelpunkt der medizinischen Forschung. Bisher sind zahlreiche Arbeiten veröffentlicht worden, die sich mit ihrer Morphologie befassen und den Gehalt an biochemisch aktiven Substanzen diskutieren. Voraussetzung dazu war die Entwicklung brauchbarer Methoden zur Darstellung der Mastzellen im Gewebe.
Die klassische Technik beruht auf Fixation und Färbung mit einem basischen Farbstoff. Bereits EHRLICH wandte dieses Prinzip an. Bei Färbung mit dem Farbstoff Dahlia unter Zusatz von 8%iger Essigsäure stellen sich die Mastzellen rotviolett dar. Diese Technik wurde unter Berücksichtigung folgender Tatsachen weiterentwickelt :
Bei der Fixation kommt es darauf an, artefizielle Degranulationen der Mastzellen zu vermeiden, die zum Beispiel durch mechanische Traumen bei Herausnahme des Gewebes oder durch wässrige Fixationslösungen entstehen. Gebräuchlich ist zum Beispiel eine 4% basische Bleiacetatlösung. Unter Ausnutzung der Metachromasie, des wichtigsten histologischen Merkmals der Granula, werden diese durch Anfärben im sauren Milieu mit basischen Farbstoffen sichtbar gemacht. Zu den gebräuchlichsten zählen Toluidinblau und Methylenblau. Um die metachromatischen Granula besser von dem orthochromatischen Rest der Zelle unterscheiden zu können, wurden zwei kontrastierende Farben wie zum Beispiel Methylengrün und Bismarckbraun vorgeschlagen. Durch gewisse Farbkombinationen lassen sich

schließlich auch Granula mit verschiedener Färbeeigenschaft (meta- oder orthochromatisch) darstellen. Hierzu zählt Alcianblau-Safranin nach SPICER (1960) s.u.
Auf Grund der geschilderten Darstellungsmethoden konnten die Verteilung der Mastzellen und ihre Cytologie untersucht werden. Die Organe von Ratte, Maus, Hund und Meerschweinchen waren hierzu geeignet, da die Granula der Mastzellen dieser Tiere weit weniger wasserlöslich sind als die des Menschen. Durch die Verbesserung der Fixationstechniken gelang es jedoch auch, die menschliche Mastzelle klar darzustellen. Jedes einzelne Organ wurde in zahlreichen Arbeiten untersucht, wobei sich folgendes feststellen ließ :
Mastzellen findet man überall im Körper, fast ausschließlich jedoch im Bindegewebe und hier besonders um Kapillaren, kleinere Blutgefäße und Drüsengänge (SELYE, 1965). In ihrer Cytologie unterscheidet sich die Mastzelle außer durch den Besitz von spezifischen metachromatischen Granula nicht wesentlich von anderen Zellen. Sie enthält in der Regel nur einen Kern, der meistens rund bis oval, selten gelappt ist. Die Zellform kann länglich mit protoplasmatischen Fortsätzen, oval oder rund sein. Der längliche Typ liegt mit Vorliebe in der Nähe von Kapillaren und kleinen Gefäßen. Seine Granula sind nur schwach metachromatisch, teilweise sogar orthochromatisch. Die runde Zelle trifft man hauptsächlich entfernt von Gefäßen an (JORPES 1946; RILEY 1953). Sie enthält stark metachromatische Granula und soll sich nach RILEY (1953) aus der kleineren länglichen entwickeln.

Im Besonderen interessieren uns die bereits bekannten Untersuchungsergebnisse über Verteilung und Cytologie der Mastzelle in der menschlichen Nasenschleimhaut. Das Vorkommen von Mastzellen in der unteren Nasenmuschel beschrieb als erster FEDERICI (1906). Nach ORLANDI (1961) findet man die Zellen besonders zahlreich im vorderen Septumanteil nahe am Locus KIESSELBACHII. HUSSAREK und NEUHOLD (1960) beobachteten eine Mastzellanhäufung dicht unter dem Epithel in unmittelbarer Nähe des Kapillarnetzes, vereinzelt Zellen in den tieferen Schichten der Tunica propria. Diese unterschiedliche regionale Verteilung bestätigen auch ROSEMANN (1966) und PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA (1969). Analog JORPES (1946) und RILEY (1953) beschrieben die beiden letztgenannten Autoren auch eine unterschiedliche lagebedingte Form.

ROSEMANN (1966) beobachtete bei den mit Toluidinblau gefärbten Mastzellen folgendes :

Die der Kapillar- oder Gefäßwand unmittelbar anliegenden langgestreckten Mastzellen mit zarten Granula haben zungenförmige Plasmafortsätze, die auf amöboide Beweglichkeit der Zelle hinweisen. Sie heben sich mit einem Zellausläufer vom Gefäß ab, wobei der wegstrebende Zellteil scheinbar abgeschnürt wird. Mit zunehmender Entfernung von dem Gefäß nehmen sie die Gestalt einer runden bis birnenförmigen Zelle mit groben, den Kern verdeckenden metachromatischen Granula an; diese Form bezeichnet der Autor als Ruhezelle. PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA (1969) stellten die Mastzelle unter

anderem mit Alcianblau-Safranin dar, eine Farbstoffkombination, die zur Differenzierung der Zellen geeignet ist. Sie stellten fest, daß die safraninpositive rote Zelle vom Gefäß entfernt liegt, während die alcianblaupositive blaue Zelle engen Kontakt zur Gefäßwand hat. Die alcianblaupositiven Mastzellen entsprechen jugendlichen Zellen. Sie enthalten einen Heparinpräcursor; die reifen Zellen dagegen sulfatiertes Heparin sowie Histamin und sind daher safraninpositiv (SPICER 1960; WORTHINGTON und BAILEY, 1962; BURTON 1964; COMBS, LAGUNOFF und BENDITT, 1965).

Neben der Verbesserung der Färbetechniken zur Darstellung der Mastzelle und ihrer Granula bemühte man sich um die Entwicklung von histochemischen Methoden zur Identifizierung spezifischer Verbindungen in Plasma und Granula.

Die erste Substanz, die in den Granula entdeckt wurde, war Heparin. 1937 zeigten JORPES, HOLMGREN und WILANDER, daß aus der Hundeleber isoliertes Heparin sich mit Toluidinblau metachromatisch anfärbt. Sie führten daher die Metachromasie der Mastzellgranula auf ihren Heparingehalt zurück und stellten mit der gleichen, von LISON (1935) beschriebenen Reaktion, eine Relation zwischen Heparin- und Mastzellgehalt des Gewebes fest. Auf Grund dieser Versuche glaubte man irrtümlich, die alleinige Funktion der Mastzelle sei es, Heparin zu produzieren,und nannte sie daher "Heparinocyt". WILANDER (1939) entdeckte als erster Mastzelldegranulationen während eines Peptonschocks. JAQUES und WATER (1941) konnten dasselbe Phänomen mit begleitender Heparinausschüttung auch

während des anaphylaktischen Schocks beobachten. Anhand der pathologischen Veränderungen, die dabei im Gewebe auftraten, vermutete man schon damals, daß auch Histamin oder ein ähnliches, vasoaktives, ödemproduzierendes Amin mit ausgeschieden wird (CAZAL, 1942). Jedoch erst 1953 zeigten RILEY und WEST in einer Reihe von Versuchen an verschiedenen Geweben, daß nicht nur der Heparin-, sondern auch der Histamingehalt des Gewebes von der Mastzelldichte abhängig ist. Die beiden Verbindungen werden in der Mastzelle produziert und als Heparin-Zink-Histamin-Komplex in den Granula gespeichert. Daraufhin wurde die Mastzelle auch "Histaminocyt" genannt. Die Begriffe Heparinocyt und Histaminocyt wurden jedoch zugunsten der alten Bezeichnung EHRLICHs wieder aufgegeben.

Daß die Mastzellgranula auch 5-Hydroxytryptamin enthalten können, wiesen BENDITT, WONG, ARASE und ROEPER (1955) am Rattenmesenterium nach. Die Versuche, diesen Nachweis auch für Gewebe anderer Spezies zu führen, scheiterten. Dennoch vermuteten die Autoren, daß zumindest gewisse Mastzellen 5-Hydroxytryptophan aufnehmen und sein Decarboxylierungsprodukt Serotonin produzieren, und die Freisetzung dieser Substanzen eine Rolle im anaphylaktischen Schock spielt. Diese Annahme bestätigen LAGUNOFF und BENDITT (1959) durch den chemischen Nachweis der 5-HTP-Decarboxylase in der Mastzelle der Ratte und FALCK (1962) durch die Darstellung von Serotonin im Fluoreszenzlicht nach p-Formaldehyddampffixierung des Gewebes von Wiederkäuern, Ratte und Maus. Beim Menschen ist dieser Nachweis negativ, da der menschlichen Mastzelle das Ferment

HTP-Decarboxylase fehlt und sie somit nur bis zum 5-Hydroxytryptophan synthetisieren kann (STÜTTGEN, STURM, BRÜSTER, 1962).

Ein Hyaluronsäure-, Arginin- und Tryptophangehalt der Mastzellgranula wird diskutiert, letzterer besonders im Hinblick auf die Produktion von 5HT (CELESTINO, 1963; ARVY, 1955). Eisen wurde nur gelegentlich bei Tier und Mensch gefunden, besonders aber dann, wenn die Mastzellen in der Nachbarschaft von Fettgewebe oder Entzündungsherden lagen (SPICER, 1960, 1963). Den zahlreichen Enzymen wurde große Aufmerksamkeit gewidmet. Folgende scheinen besondere Bedeutung zu haben : In den Granula die Phosphatase und ATP-ase (SCHAUER und EDER, 1962), die beim Aufbau von Heparin und Inaktivierung biogener Amine beteiligt sein sollen (RINGERZ, 1963), sowie trypsin- und chymotrypsinähnliche Fermente mit esterolytischer Aktivität (KELLER, 1967); im Cytoplasma die für die Synthese der biologisch aktiven Amine (Histidin-Decarboxylase, ROTHSCHILD und SCHAYER, 1959; 5-Hydroxytryptophan-Decarboxylase, LAGUNOFF und BENDITT, 1959) sowie des Heparins (ATP-Sulfurilase, KELLER, 1967) verantwortlichen Enzyme.

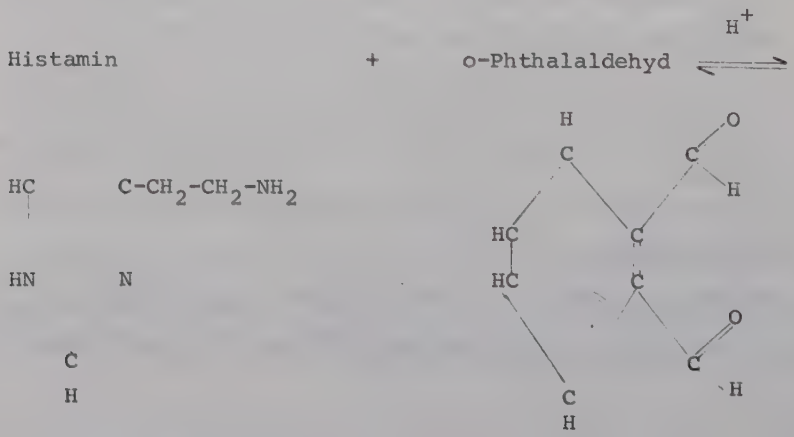
Zur intrazellulären Darstellung biologisch wirksamer Substanzen in der Mastzelle gibt es zahlreiche Nachweismethoden.

In dieser Arbeit soll nur auf diejenigen für Histamin eingegangen werden.
SCHAUER und WERLE (1959) schlugen vor, das Histamin mit Reineckesalz zu fällen und anschließend durch eine Diazo-

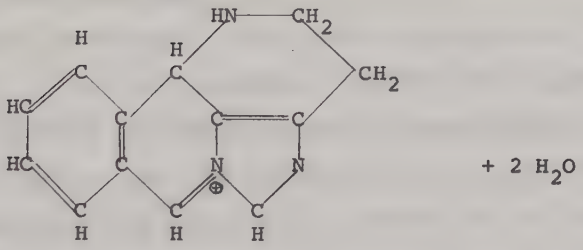
kupplungsreaktion mit Sulfanilsäure sichtbar zu machen. Die kristalline Fällung in den Granula hebt sich dann von dem nur schwach gelblich gefärbten Untergrund ab. Aus diesen Beobachtungen, die die Autoren am Rattenmesenterium anstellen konnten, schlossen sie, daß die Färbung hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich auf Histaminreineckat zurückzuführen und somit das Histamin in den Granula der Mastzellen lokalisiert sei, wie bereits MOTA (1954) annahm.

LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1960) entwickelten einen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweis. Dabei wird das Gewebe mit Formaldehyd bedampft. Histaminhaltige Mastzellen sollen im ultravioletten Licht gelbgrün fluoreszieren.

JUHLIN und SHELLEY (1966) führten eine neue Methode zum histochemischen Nachweis von zellulär gebundenem Histamin ein. Sie beruht auf dem von SHORE, BURKHALTER und COHN (1959) beschriebenen fluorometrischen Prinzip : Histamin reagiert mit ortho-Phthalaldehyd unter Bildung eines fluoreszierenden Komplexes.



Vermutetes Fluoreszenzprodukt



+ 2 H_2O

SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) erweiterten die Technik durch Einführen der Gefriertrocknung und anschließender Einbettung des Gewebes in Paraffin. Histaminhaltige Mastzellen fluoreszieren nach Behandlung mit o-Phthalaldehyd gelb auf blauem Untergrund.

Die pharmakolgische Wirkung des Histamins ist bekannt. Es ist vasoaktiv, das heißt, es erweitert die Kapillaren und steigert deren Permeabilität durch Auflockerung des Endothels. Dadurch tritt Plasma aus dem Gefäß in das Gewebe über, so daß sich Ödeme entwickeln. Außerdem regt Histamin die Sekretion der Drüsen an.

Histamin entsteht in der Mastzelle durch enzymatische Decarboxylierung der Aminosäure Histidin. Die Mastzelle stellt den Hauptträger des Histamins im Gewebe dar. Sie speichert es in inaktiver Form als Heparin-Histamin-Komplex in den Granula (RILEY, 1959). Der Histamingehalt pro Zelle

wird auf 7-32 µµg geschätzt (SELYE, 1965). Eine Histaminabgabe durch die Mastzelle und die damit verbundene Aktivierung wurde in vivo im Bereich der Nasenschleimhaut nur unter pathologischen Bedingungen beobachtet (ROSEMAN, 1966; PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA, 1969).

Die vergleichsweise große Anzahl von Mastzellen in der menschlichen Nasenschleimhaut und ihr hoher Histamingehalt führen zu der Annahme, daß Histamin hier eine wichtige Rolle bei den häufig auftretenden akuten und allergischen Entzündungen spielt.

NAUMANN (1950) bepinselte Nasenmuscheln von gesunden und allergischen Patienten mit Histamin. Er beobachtete eine reaktive Rötung (Kapillardilatation) und Schwellung (Ödem durch Permeabilitätssteigerung) der Schleimhaut mit vermehrter Sekretabsonderung (Anregung der Drüsen). Die Stärke der Reizbeantwortung war bei gesunden und erkrankten Personen gleich. Diese flüchtigen, rezidivierenden Erscheinungen, die in gleicher Form bei einer akuten Entzündung auftreten, sind also auch bei diesem Krankheitsbild auf eine Histaminabgabe zurückzuführen. Unter dem Mikroskop erkennt man dabei eine Gefäßerweiterung und ein Schleimhautödem. Die Mastzellen sind scheinbar verschwunden oder haben ihre Granula ausgeschleußt und sehen daher wie entleert aus. Mit dem Abklingen der Entzündung treten sie wieder auf, sei es durch Differenzierung und Neubildung oder Regranulation der noch vorhandenen (SYLVEN, 1957;

RILEY, 1959; ROSEMAN, 1966). Bei der Allergie kommen eine lymphocytäre, plasmazelluläre,besonders aber eine eosinophile Granulocyten-Infiltration hinzu. Letztere geht mit einer Verminderung der Mastzellen einher (LEICHER, 1928; MESSERKLINGER, 1960; ROSEMAN, 1966; PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA; MOOTZ und MÜSEBECK, 1969).

III. Material und Methodik

Zur Untersuchung kamen 15 menschliche Nasenmuscheln, die bei Oberkieferresektionen en bloque, Muschelkappungen sowie Septumresektionen gewonnen werden konnten. Folgende histologische und histochemische Untersuchungsmethoden wurden angewandt :

1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung,
2. Toluidinblaufärbung,
3. Histochemischer Histaminnachweis nach SCHAUER und WERLE (1959).

Dabei kommen die Gefrierschnitte für 12-20 Stunden in wässrige Reineckesalzlösung. Weiterbehandlung in gesättigter Sodalösung. Färbung in einer Lösung aus Diazo I (Sulfanilsäure in wässriger Lösung mit Zusatz von konzentrierter Salzsäure) und Diazo II (Natriumnitrit) im Verhältnis 1:2 gemischt.
Unter dem Mikroskop sollen dabei die Mastzellgranula hellrot auf gelblichem Untergrund erscheinen.

4. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis nach LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1961).

Nach Gefriertrockung wird das Gewebe mit Formaldehyddampf 16-48 Std. bei 55-60° C fixiert.
Einbettung der Gewebeblöckchen in Paraffin.
(Färben der 5-8 µ dicken Paraffinschnitte in einer Lösung von 5% p-Bromanilin in 1n HCl und 5% wässriger $NaNO_2$lösung. Nach Eindeckung der Schnitte Betrachtung unter dem Mikroskop. Mastzellen erscheinen orange auf gelbem Untergrund).
Bei Betrachtung von ungefärbten Paraffinschnitten unter dem Fluoreszenzmikroskop sollen die histaminhaltigen Mastzellen im ultravioletten Licht gelb-grün fluoreszieren.

5. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968).

a) Das noch lebendfrische Gewebe wird in Blöckchen von einer maximalen Kantenlänge von 3 mm zerlegt und sofort in iso-Pentan, das mit Kohlensäureschnee in Aceton auf -70° C heruntergekühlt wird, eingefroren.

b) Sofortiges Einbringen der Gewebeblöckchen in den Rezipienten der schon auf -45° C vorgekühlten Gefriertrocknungsanlage. Wir benutzen die ALPHA-I-Gefriertrocknungsanlage der Firma CHRIST, die durch Einbau eines Peltierelements eine Temperatureinstellung zwischen -45° C und +80° C leicht ermöglicht. Die Wasserabsorbtion erfolgt bei diesem Gerät über eine Phosphorpentoxydfalle.
Folgende Trocknungszeiten halten wir für ausreichend: 6 Stunden bei -45° C, 12 Stunden bei -25° C und 6 Stunden bei Zimmertemperatur.

c) Einbetten der Gewebeblöckchen in Paraffin im Vakuum. Die Gewebsstückchen sinken nach dem Trocknungsprozeß im flüssigen Paraffin sofort unter. Entnehmen der Blöckchen nach Erstarren des Paraffins.

d) Die durchschnittlich 10 µ dicken Schnitte werden auf einem trockenen, in Bichromat-Schwefelsäure gereinigtem Objektträger auf einer Wärmeplatte bei 60° C gestreckt. Dabei soll das Paraffin nicht völlig schmelzen.

e) Einbringen der Objektträger in eine feuchte Kammer (100% LF), in der die Schnitte bei Zimmertemperatur 4 Minuten mit 1% o-Phthalaldehyd in Xylol überschichtet werden. Anschließend Eindecken in Tetrahydrofurfuryl-alkohol.

f) Die fluoreszenzmikroskopische Auswertung erfolgt mit der LEITZ-Fluoreszenzeinrichtung mit Mikroskop ORTHOPLAN im Dunkelfeld. Erregerfilter: UG 1 in Kombination mit dem Rotdämpfungsfilter BG 38. Kantenfilter: K 430. Bei dieser Einstellung erscheinen die gelb-fluoreszierenden histaminhaltigen Mastzellen auf blauem Untergrund. Die photographische Dokumentation der Ergebnisse erfolgt mit der automatischen Mikroskop-kamera der Firma LEITZ. Bei einer Einstellung auf Detailmessung liegen die Belichtungszeiten zwischen einer und fünf Sekunden.

6. Außerdem wurde der Histaminnachweis an Gefrierschnitten nach JUHLIN und SHELLEY (1966) durchgeführt. Die Gefrierschnitte wurden wie 5 e-f weiterbehandelt und ausgewertet.

IV. Ergebnisse

Mit Hilfe der orientierenden Toluidinblaufärbung, sowie des spezifischen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweises (SHELLEY, ÖHMAN und PARNES, 1968) konnten wir die Verteilung der Mastzellen in der menschlichen Nasenschleimhaut darstellen. In der strukturell gut erkennbaren Mucosa liegen die Mastzellen: 1. subepithelial,
2. im Bereich des Gefäßsystems,
3. zwischen den Drüsen;

1. subepithelial: Schon bei schwacher Vergrößerung lassen sich unterhalb des mit schwach bläulich fluoreszierendem Schleim bedeckten respiratorischen Epithels zahlreiche intensiv gelbfluoreszierende Mastzellen erkennen.

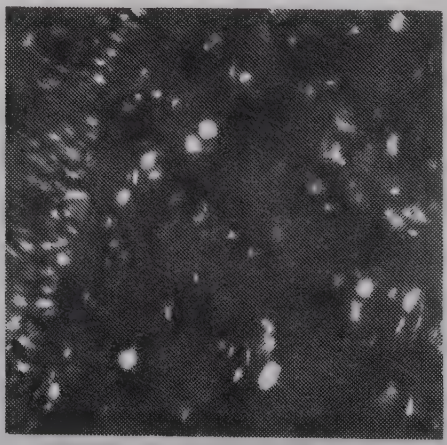


Abb. 1: Menschliche Nasenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis. Im Übersichtspräparat lassen sich Oberflächenepithel und darunterliegende Strukturen der Lamina propria gut abgrenzen. Die intensiv gelbfluoreszierenden Mastzellen heben sich deutlich von den übrigen bläulichen Strukturen ab. Vergr. 10 x 25.

Diese liegen in unmittelbarer Nachbarschaft der Kapillaren, die hier ein dichtes Netz bilden. Die Mastzellen lassen sich deutlich von dem blaufluoreszierenden bindegewebigen Stroma abgrenzen. Ihre topographische Zuordnung ist gut erkennbar, da sich die Kapillaren durch ihr gelbblaufluoreszierendes Endothel sowie durch ihr schwarzes Lumen scharf von der bindegewebigen blauen Tunica propria abheben. Die Mastzellen schmiegen sich meist in länglicher Form an die Gefäßwand an (Abb. 3) und nehmen mit zunehmender Entfernung von den Kapillaren eine mehr ovale bis kugelige Form an (Abb. 4). Nicht selten liegen sie dicht unter dem blaugelbfluoreszierenden Flimmerepithel. Mastzellen innerhalb des Epithels konnten wir niemals nachweisen. Dieser Befund wird auch durch die vergleichende Toluidinblaufärbung untermauert.
Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß das Cytoplasma der Mastzellen mit feinen gelbfluoreszierenden Granula übersät ist.

Abb. 2: Menschliche Nasenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis.
Reife, von der Gefäßwand abgewanderte Mastzelle.
Die Granula sind deutlich sichtbar. Vergr. 10 x 40.

In der länglichen, gefäßnahen Mastzelle liegen sie weniger dicht im Plasma und lassen noch Teile des Kerns erkennen. Bei der abgewanderten, runden und reifen Mastzelle liegen die Granula so dicht gepackt, daß auch der Kern nicht mehr sichtbar ist. Die Granula sind infolge des überstrahlenden Fluoreszenzlichtes und besonders bei dickeren Schnitten nur noch andeutungsweise als Einzelteile dargestellt, so daß der Eindruck entsteht, das Plasma fluoresziere einheitlich gelb (Abb. 4). Histaminhaltige Granula außerhalb der Mastzelle (Degranulationen) konnten in der gesunden Nasenschleimhaut niemals beobachtet werden. Ebensowenig finden sich, bedingt durch die sofortige Verarbeitung des Gewebes nach Entnahme und vor allem durch die Gefriertrocknungs-

methode, gelbfluoreszierende Diffusionshöfe um die Zellen. Diese heben sich vom Bindegewebe immer scharf ab. Bei stärkerer Vergrößerung lassen sich auch die nichthistaminhaltigen Gewebsbestandteile deutlich und klar abgrenzen, zum Beispiel Fibrocyten, Epithelzellen, Blutgefäß- und Bindegewebszellen. Die Tunica propria ist nicht ödematös verändert, auch das Gefäßlumen erscheint normal groß. Zeichen der allergischen Entzündung (Degranulationen, Zellverklumpung, Ghostcells), wie wir sie in einem Nebenbefund antrafen, sind bei unseren Untersuchungen an normaler Nasenschleimhaut nicht feststellbar.

2. im Bereich des Gefäßsystems: In den zellärmeren tieferen Schichten der Tunica propria der Nasenschleimhaut, wo die zum Kapillarnetz führenden Arterien, die mit starken Muskelsphinkteren ausgestatteten cavernösen Räume (venöser Schwellkörper) und die abführenden Venen liegen, können ebenfalls Mastzellen, allerdings in geringerer Dichte, beobachtet werden. Auch hier liegen die Zellen in länglicher Form in der Adventitia der Gefäße, deren Verlauf an ihrem nichtfluoreszierenden, sich vom Untergrund scharf abhebenden Lumen deutlich zu verfolgen ist.

Abb. 3: Menschliche Nasenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis. Eine längliche jugendliche Mastzelle findet sich in engster topographischer Beziehung zur Gefäßwand. Vergr. 10 x 40.

Alle Wandschichten sind besonders im Bereich der Arterien klar zu erkennen: Endothel und Muskelzellen fluoreszieren blau-gelblich, die Elastica fällt durch ihre schwachblaue Fluoreszenz und ihren charakteristischen Verlauf auf. Auch in diesem tieferen Areal nehmen die Mastzellen mit zunehmender Abwanderung von der Gefäßwand eine mehr rundliche Form an. Die Verteilung der Granula verhält sich ebenso wie bei den subepithelial gelegenen Mastzellen.

Abb. 4: Menschliche Nasenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis.
Die Mastzellen nehmen mit zunehmender Abwanderung von der Gefäßwand eine kugelige Form an. Bedingt durch den hohen Histamingehalt der Granula fluoreszieren die Zellen meist homogen. Die Wand der Gefäße (Bildmitte) fluoresziert bläulich-gelb. Vergr.10 x 40.

3. zwischen den Drüsen: Im Bereich der seromucösen Schleimdrüsenpakete der Tunica propria sind ebenfalls Mastzellen nachzuweisen. Diese liegen meist in länglicher Form zwischen den serösen und mucösen Endstücken. Ihre Lage ist leicht auszumachen, da sich die intensive gelbe Histaminfluoreszenz der Mastzellen gut von den blau-gelbfluoreszierenden gemischten Drüsenacini abhebt. Man findet sie außerdem zum Teil in enger Nachbarschaft zu den Ausführungsgängen. In den Zellen dieser Gänge läßt sich nicht selten ein orangefarbenes Pigment erkennen.

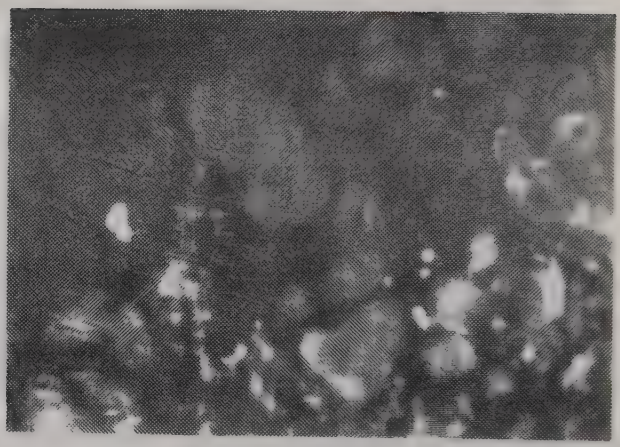


Abb. 5: Menschliche Nasenschleimhaut. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis.
Histaminhaltige Mastzellen in unmittelbarer Nachbarschaft der seromucösen Drüsen sowie zwischen den Acini, die rechts deutlich zu erkennen sind.
Vergr. 10 x 25.

Die dabei von uns angewandte Methode nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) ist sehr gewebsschonend. Bedingt durch das schnelle Eingefrieren bei sehr tiefen Temperaturen (-70° C) konnten niemals Gewebszerreißungen oder Zerstörungen der zellulären Elemente beobachtet werden. Der Histaminnachweis an Gefrierschnitten nach JUHLIN und SHELLEY (1966) wurde von uns ebenfalls durchgeführt. Wir haben jedoch diese Methode in der Folge nicht mehr angewandt, da sie umständlich ist und mangelhafte, sowie schlecht reproduzierbare Ergebnisse

liefert. So konnten wir zum Beispiel, bedingt durch die Diffusion des Histamins in das wässrige Milieu, die Mastzellen verglichen mit der Gefriertrocknungstechnik nur in geringerer Zahl nachweisen. Nicht selten ließen sich Diffusionshöfe um die Zellen beobachten. Ferner war auf Grund der größeren Schnittdicke das histologische Bild niemals so klar wie bei den gefriergetrockneten Präparaten. Vergleichende Untersuchungen mit der Technik nach SCHAUER und WERLE (1959) an Schnitten der menschlichen Nasenschleimhaut führten niemals zu einem positiven Ergebnis. Auch mit dem Nachweis nach LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1961) erhielten wir keine reproduzierbaren Befunde.

V. Diskussion der Ergebnisse

Unsere Untersuchungen an der menschlichen Nasenschleimhaut haben gezeigt, daß die fluoreszenzmikroskopische Methode an Gefriertrocknungsschnitten nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) die heute beste Technik darstellt, Histamin selektiv in den Mastzellen nachzuweisen.
Mit den älteren Methoden, die wir vergleichsweise durchführten (SCHAUER und WERLE, 1959; LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT, 1961), erhielten wir keine brauchbaren Ergebnisse. Die Gründe hierfür sind :

Bei der Methode nach SCHAUER und WERLE (1959) führt die chemische Fixierung menschlicher Mastzellen mit Reinecke-salz zur Loslösung des Histamins. Das Salz liegt in einer wässrigen Lösung vor, in die Histamin passiv hineindiffundiert. Es wirkt außerdem als stimulierende Noxe, auf die Histamin aktiv freigesetzt wird. Die von den Autoren am Rattenmesenterium beobachtete hellrote kristalline Fällung von Histaminreineckat erklärt sich durch die wesentlich geringere Wasserlöslichkeit der Mastzelle der Ratte.
Bei menschlichem Gewebe tritt jedoch eine diffuse Färbung der Mastzellen auf, ein Bild, das dem nach Vorbehandlung des Gewebes mit Histaminliberatoren entspricht. Diese Befunde werden auch von LISON (1966) und SHELLEY (1968) bestätigt.

Bei der Methode nach LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1961) reagiert Histamin mit p-Formaldehyd unter Bildung von Tetrahydro-Pyridoimidazol, das im ultravioletten Licht fluoresziert. Andere Verbindungen, die ebenfalls mit p-Formaldehyd reagieren und an der Fluoreszenz beteiligt sind, können aber nicht ausgeschlossen werden. Auch LISON (1966) fand keine Erklärung dafür, warum er mit dieser Technik beim Hundegewebe, das bekanntlich große Mengen an Histamin enthält, niemals positive Ergebnisse erhielt. Auf Grund späterer Untersuchungen läßt sich vermuten, daß eher Serotonin für die Fluoreszenz verantwortlich ist. 1962 konnte FALCK dieses biogene Amin als p-Formaldehyd-fluoreszenzprodukt nachweisen.

Die von uns angewandte Technik nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) beruht auf dem fluorometrischen Histaminnachweis nach SHORE, BURKHALTER und COHN. Sie bietet gegenüber den anderen Methoden entscheidende Vorteile :

1. durch ihre hohe Spezifität,
2. durch ihre hohe Sensibilität,
3. durch ihre einfache Ausführung und gute Reproduzierbarkeit.

ad 1 SHORE et al. untersuchten eine große Anzahl Verbindungen, Amine und Imidazole. Sie fanden, daß ausschließlich die N-unsubstituierten 4-Imidazole, also Histamin, seine Vorstufe Histidin und wahrschein-

lich Histidinol (nicht untersucht) mit o-Phthalaldehyd ein fluoreszierendes Kondensationsprodukt bilden. Außerdem verhindert eine Methylierung des Histamins entweder am Ring oder an der Seitenkette die Bildung der fluoreszierenden Verbindung. Die Folge der Methylierung, das Ausbleiben der Fluoreszenz, beweist, daß nur Histamin dafür verantwortlich sein kann. Nachdem somit der Spezifitätsbeweis für freies Histamin erbracht war, führten SHORE und seine Mitarbeiter (1959) ihn auch für Gewebshistamin durch und zwar an mehreren Gewebsarten verschiedener Spezies. Dabei ergab sich: Das freie Histamin und das Gewebshistamin sind im direkten Vergleich identisch, in dem Aktivations- und Fluoreszenzspektrum des Kondensationsproduktes aus Histamin und o-Phthalaldehyd, in den Bioversuchen und im Prozentsatz des Histaminabbaues durch Diaminooxydase.

ad 2 Bereits SHORE, BURKHALTER und COHN (1959) wiesen darauf hin, daß die Fluoreszenzintensität proportional zum Histamingehalt einer Lösung ist, wenn die Konzentration zwischen 0,005 und 0,5 mg/ml liegt. Also noch bei einer Konzentration von 0,005 mg/ml läßt sich Histamin einwandfrei qualitativ und auf Grund seiner Fluoreszenzintensität auch quantitativ nachweisen. Den Beweis für die hohe Sensibilität der Methode auch bei Gewebshistamin führten SHELLEY, ÖHMAN und PARNES

(1968). Sie stellten noch Histamin-Mastzelldepots cytologisch klar dar, die mit vergleichsweise durchgeführten anderen Techniken überhaupt nicht mehr erfaßt werden konnten.

ad 3 Die Vorteile der einfachen Ausführung und guten Reproduzierbarkeit liegen hauptsächlich darin, daß SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) die Gefriertrocknungstechnik anwandten. Sie läßt bei Aufbewahrung des Gewebes, Herstellung und Färbung der Schnitte einen größeren Spielraum zu, auf den man bei Behandlung von Gefrierschnitten verzichten muß (JUHLIN und SHELLEY, 1966). Die in Paraffin eingebetteten gefriergetrockneten Gewebeblöckchen lassen sich längere Zeit lagern; das Gewebe wird dabei nicht zerstört, eine Histamindiffusion aus den Zellen also vermieden. Von den Paraffinblöcken kann man für die Auswertung vorteilhafte, sehr dünne Schnitte anfertigen. Kontrollschnitte für orientierende Färbungen sind ebenfalls jederzeit herstellbar.

Form und Verteilung der Mastzelle in der menschlichen Nasenschleimhaut sind unter anderem durch ROSEMANN (1966) und PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA (1968) beschrieben worden. Ihre Befunde werden im wesentlichen durch unsere Ergebnisse bestätigt. Die Autoren machten sich bei ihrer Darstellung der Mastzelle mit Toluidinblau (ROSEMANN, 1966)

oder Alcianblau-Safranin (PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA, 1968) das seit langem bekannte metachromatische Verhalten der Granula zunutze, während wir mit der Methode nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) Histamin intracellulär anfärbten. So geben unsere Bilder nicht nur einen Überblick über die Mastzellverteilung in verschiedenen Gewebsregionen, sondern auch Auskunft über qualitativen und quantitativen Histamingehalt jeder einzelnen Zelle. Die jugendliche, fibrocytenähnliche Zelle in Gefäßnähe enthält bereits geringe Mengen Histamin, erkennbar an der schwachen Intensität der Gelbfluoreszenz. Die rundliche, abgerückte Zelle fluoresziert leuchtend gelb, sie hat einen hohen Histamingehalt. Dazwischen kann man jede Übergangsform beobachten. In diesem Befund stimmen wir ebenfalls mit früheren Autoren überein, die aber im Gegensatz zu uns, den Histamingehalt nur annäherungsweise auf Grund von Metachromasiestärke und Granulaanzahl der Mastzelle schätzen konnten.
(Für die Metachromasie der Granula ist zwar Heparin verantwortlich, jedoch bildet es zusammen mit Histamin einen Komplex. RILEY, 1959; MESSERKLINGER, 1960).

Die Frage nach der Funktion, die die Mastzelle durch ihren Histamingehalt in der Nasenmuschel ausübt, drängt sich auf Grund dieser Ergebnisse auf. Histamin liegt nach RILEY (1959) und KELLER (1958) als Histamin-Zink-Heparinkomplex vor, auf jeden Fall in gebundener und damit inaktiver Form. Seine Wirkung kann also erst nach Freigabe durch die Zelle ein-

setzen. In der gesunden Nasenschleimhaut, in der auch von uns keine Anzeichen für eine mögliche Histaminabgabe beobachtet werden konnten, hat die Mastzelle wahrscheinlich nur eine "Wachpostenfunktion". Sie reagiert erst auf das Eindringen einer Noxe, zum Beispiel eines Inhalationsallergens mit Histaminfreisetzung (ROSEMANN, 1966). Die Zellen schwellen dabei an, können aber auch intakt bleiben. Einige Autoren sehen hierin einen aktiven Sekretionsvorgang (JORPES, 1946; PRUNIERAS, 1956; MESSERKLINGER, 1960; LINDNER, 1961). Daneben beobachtet man aber auch häufig zerstörte Mastzellen mit extrazellulären metachromatischen Körnchen, ähnlich wie bei der experimentell herbeigeführten Histaminfreisetzung von RILEY, 1959 (ROSEMANN, 1966; MOOTZ und MÜSEBECK, 1969). Die Folgen des erhöhten Gehaltes an freiem Histamin im Gewebe sind die bereits beschriebenen pathologischen Veränderungen der Schleimhaut. Erleidet diese jedoch chronische Irridation, geht der zunächst akut entzündliche Prozeß in einen allergischen über. Besonders bemerkenswert ist dabei die verminderte Anzahl der Mastzellen, wobei die fibrocytenähnliche Form überwiegt. PUSKAS, MODIS, JAKABFI und KOSA (1968) machen dafür ihren vermehrten Untergang und die Beschleunigung ihrer Neubildung verantwortlich. Sie bezeichnen diese Veränderung als "Linksverschiebung". Parallel dazu verläuft eine Eosinophilie. MITTERMAIER (1961) wies als erster auf das reziproke Verhältnis dieser beiden Zellarten hin. ROSEMANN (1966), der die Beobachtung in zwei Drittel seiner untersuchten Fälle bestätigen konnte, diskutierte

eine mögliche Histaminabräumungs- und Entgiftungsfunktion der eosinophilen Granulocyten, die durch den erhöhten Gehalt an freiem Histamin chemotaktisch angelockt werden sollen.

Auf Grund unserer Ergebnisse läßt sich zusammenfassend sagen:

Die Mastzellen produzieren und speichern Histamin. In der gesunden Nasenschleimhaut stellen sie, infolge ihres hohen Histamingehaltes, ein potentielles Abwehrsystem dar, das erst nach Eindringen einer Noxe in Aktion tritt.

VI. Zusammenfassung

Mit Hilfe des spezifischen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweises konnte Histamin in den Mastzellen der menschlichen Nasenschleimhaut nachgewiesen werden. Diese Methode zeichnet sich durch ihre hohe Spezifität, Sensibilität, sowie durch gute Reproduzierbarkeit aus.
Bezüglich der Morphologie und Verteilung der gelbfluoreszierenden Mastzellen konnten folgende Befunde erhoben werden:
Sie finden sich gehäuft subepithelial, spärlicher in Nähe der Gefäße, vereinzelt zwischen den seromucösen Drüsen.
Die jugendliche längliche Mastzelle liegt in Gefäßnähe.
Sie enthält weniger und schwächer fluoreszierende Granula als die größere rundliche Form, die in ihrer Anzahl überwiegt.
Sie ist im Verlaufe ihrer Ausreifung vom Gefäß abgerückt.
Die Vorteile der Methode von SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) gegenüber früheren histochemischen Histaminnachweismethoden werden diskutiert.
Aufgrund des hohen Histamingehaltes wird den Mastzellen der normalen menschlichen Nasenschleimhaut eine "Wachpostenfunktion" zugeordnet. Dies wird bei der allergischen Rhinitis deutlich, bei der es zur nachgewiesenen Veränderung der Nasenschleimhaut (zum Beispiel Degranulationen) kommt.
Histologisch zeigt sich ferner eine Gefäßdilatation sowie ein Gewebsödem. Diese pathologischen Veränderungen müssen als spezifische Wirkung des Histamins aufgefaßt werden.

Unsere Untersuchungen an normaler menschlicher Nasenschleimhaut liefern durch den Nachweis histaminhaltiger Mastzellen den Beweis für die latente Allergiebereitschaft im Bereich der Nase.

Literaturverzeichnis

ARVY, L. : Les labrocytes.
Rev. Hemat., 10, 55 (1955).

BENDITT, E.P., R.L. WONG, M. ARASE and E. ROEPER : 5-Hydroxytryptamin in Mastcells.
Proc.Soc.exper.Biol.(N.Y.) 90, 303 (1955).

BURTON, A.L. : Histochemical studies on developing mast cells.
Anat. Rec. 150, 265 (1964).

CAZAL, P. : Mastocytes, mastocytoses, histamine et héparine.
Bull.Soc.Sci.Med.Biol.(Montpellier) 21, 152 (1942).

CELESTINO, D. : Studio istologico ed istochimico della rhinopatia vasomotorica.
Boll.Mal.Orecch. 82, 5 (1964).

COMBS, J.W., D. LAGUNOFF, E.P. BENDITT : Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat.
J.Cell.Biol. 25, 577 (1965).

EHRLICH, P. : Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik.
Arch.mikr.Anat., 13, 236 (1877).

FALCK, B. : Observations on the possibilities of the cellular localisation of monoamines by a fluorescence method. Acta physiol.scand. 56, sup. 197 (1962).

FEDERICI, F. : Un nuovo metodo per la colorazione specifica della Mastzellen. Anat. Anz., 29, 357 (1906).

HUSSAREK, M. u. R. NEUHOLD : Über den Mastzellgehalt der Nasenschleimhaut bei Rhinitiden verschiedener Stadien. Arch.Ohr-,Nas.-u.Kehlk.-Heilk. 176, 433 (1960.

JAQUES, L.B. and E.T. WATERS : The identity and origin of the anticoagulant of anaphylactic shock in the dog. J.Physiol.(Lond.) 99, 454 (1941).

JORPES, J.E. : Heparin. Oxford. Univ. Press. London, 57 (1946).

JORPES, J.E., H. HOLMGREN u. O. WILANDER : Über das Vorkommen von Heparin in den Gefäßwänden und in den Augen. Ztschr.mikr.-anat. Forschung 42, 279 (1937

JUHLIN, L. and W.E. SHELLEY : Detection of histamine by a new fluorescent o-phthaldehyde stain. J.Histochem.Cytochem. 14, 525 (1966).

KELLER, R. : Bedeutung der Gewebsmastzelle im Entzündungsvorgang. Med.Klin. 38, 1453 (1962).

LAGUNOFF, D. and E. BENDITT : 5-Hydroxytryptophan decarboxylase activity in rat mast cells. Amer.J.Physiol. 196, 993 (1959).

LAGUNOFF, D., M. PHILLIPS and E.P. BENDITT : The histochemical demonstration of histamine in mast cells. J.Histochem.Cytochem. 9, 534 (1961).

LEICHER, H. : Über allergische Rhinitis. Z.Hals-,Nas.-u.Ohrenheilk. 20, 238 (1928).

LINDNER, J. : Die Mastzelle. Arch.klin.exp.Derm. 213, 277 (1961).

LISON, L.A.J. : Etudes sur la métachromasie. Colorants métachromatiques et substances chromotropes. Arch.Biol.(Liège), 46, 599 (1935).

LISON, L.A.J. : Histochimie des mastocytes. In: Histamin and Anti-Histaminics. Springer-Verlag, New York, 1966.

MESSERKLINGER, W.: Über die Mastzellen in der Schleimhaut der oberen Luftwege. Z.Laryng.,Rhinol. 39, 447 (1960).

MITTERMAIER, R.: Die Rolle des Histamins bei Allergie und Infektion der Nasenschleimhaut. Fortschr.Hals-,Nas.-Ohrenheilk. 10, 64 (1961).

MOOTZ, W. und K. MÜSEBECK: Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis an normaler und allergisch veränderter Nasenschleimhaut. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.-u.Kehlk.Heilk. 194, 447 (1969).

MOTA, I., W.T. BERALDO, A.G. FERRI and L.C.U. JUNQUEIRA : Intracellular distribution of histamine. Nature (Lond.) 174, 698 (1954).

NAUMANN, H.H. : Zur Wirkung des Histamins auf die untere Nasenmuschel des Menschen. Z.Laryng.,Rhinol. 29, 200 (1950).

NIEBAUER, G. : Morphologie, Histologie und Funktion der Blut- und Gewebsmastzellen. Z.ges.Blutforschung 16, 267 (1968).

ORLANDI, G. : Osservazioni sulla presenza, sulla distributione numerica e sul significato delle Mastzellen nella mucosa nasale. Arch.ital.Otol., 72, 34 (1961).

PRUNIERAS, M. : Contribution à l'étude du mastocyte. Rev.lyon.Méd. 5, 1 (1956).

PUSKAS, F., L. MODIS, I.JAKABFI u. D.KOSA : Histologische und histochemische Untersuchungen bei allergischer Rhinitis. Z.Laryng.,Rhinol. 48, 188 (1969).

RILEY, J.F. : The relationship of the tissue mast cells to the blood vessels in the rat. J.Path.Bact., 65, 461 (1953).

RILEY, J.F. : The Mast Cells. Edinburgh & London: E.& D. Livingstone Ltd. 1959.

RILEY, J.F. and G.B. WEST : The presence of Histamine in tissue mast cells. J.Physiol.(Lond.) 120, 528 (1953).

RINGERZ, N.R. : Polysaccharides of neoplastic mast cells. Ann.N.Y.Acad.Sci. 103, 209 (1963).

ROSEMANN, G.: Das Verhalten der Mastzellen bei Infektion und Allergie der Nasen- und Nebenhöhlenschleimhaut. Z.Laryng., Rhinol., 45, 459 (1966).

ROTHSCHILD,A.M. and R.W. SCHAYER : Characterisation of histidine decarboxylase from rat peritoneal fluid mast cells. Biochim.biophys.Acta (Amst.), 34, 392 (1959).

SCHAUER, A. und M. EDER : Die Entwicklung von Mucopolysacchariden und Bildung histochemisch nachweisbarer Enzyme während der Mastzellreifung. Virchows Arch.pathol.Anat. 335, 72 (1962).

SCHAUER, A. und E.WERLE : Zur histochemischen Darstellung des Histamins der Mastzellen. Z.ges.exp.Med., 131, 100 (1959).

SELYE, H. : The Mast Cells. Washington, Butterworth, 1965.

SHELLEY, W.B., S. ÖHMAN and H.M. PARNES : Mast cell stain for histamine in freeze-dried embedded tissue. J.Histochem.Cytochem. 16, 433 (1968).

SHORE, P.A., A. BURKHALTER and V.H. COHN : A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. J.Pharmacol.exp.Ther. 127, 182 (1959).

SPICER, S.S. : Siderosis associated with increased lipofuscins and mast cells in aging mice. Amer. J. Path., 37, 457 (1960).

SPICER, S.S. : Histochemical properties of mucopolysaccharide and basic protein in mast cells. Ann.N.Y.Acad.Sci., 103, 322 (1963).

STÜTTGEN, G., A. STURM und H. BRÜSTER : Biochemische Studien zur Reaktivität mastzellreicher menschlicher Haut. Arch.klin.exp.Dermat., 214, 362 (1962).

SYLVEN, B. : On the topographical cytochemistry of tissue mast cells. In: Connective Tissue. A Symposium Springfield: Charles C Thomas Publ., First Printing, p. 27 (1957).

WALDEYER, W. : Über Bindegewebszellen. Arch.mikr.Anat., 11, 176 (1875).

WILANDER, O. : Studien über Heparin. Skand.Arch.Physiol. 81, sup. 15 (1939).

WORTHINGTON, W.C., N.C. BAILEY : Dual staining of mast cell cytoplasmatic constituents by alcian blue and safranin. J.Histochem.Cytochem. 10, 4 (1962).

Herrn Professor Dr.Dr.K.MÜSEBECK danke ich für die Überlassung des Themas, für die großzügige Bereitstellung des histologischen Laboratoriums und für die Ratschläge, mit denen er mir behilflich war.

Auch Herrn Dr. med. W. MOOTZ, der mich in die Grundlagen der histologischen Technik und Mikrophotographie einführte und mir hierin stets mit Rat und Tat behilflich war, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Ich, Ute-Maria Margareta Christina Kirchberger geborene Malluche, wurde am 12.7.1945 in Köttweinsdorf, Kreis Pegnitz als viertes Kind des Lungenfacharztes Dr.med.Harald Malluche und seiner Ehefrau Dr.med.Renate Malluche geboren.
Die Volksschule besuchte ich vom Herbst 1951 bis zum Herbst 1956 in dem oberfränkischen Dorf Gößweinstein. Im September 1956 trat ich in das Mädchenrealgymnasium Sankt Anna in München ein. Seit Ostern 1958 besuchte ich die Klosterschule Frauenwörth in Frauenchiemsee. Im Juli 1959 zog ich zu meinem Vater nach Frankfurt am Main, wo er inzwischen tätig geworden war. Ich gewann durch den unterschiedlichen Schulbeginn von Hessen und Bayern ein halbes Schuljahr und wurde daher in die Untertertia der Schillerschule, Realgymnasium für Mädchen in Frankfurt aufgenommen.
Ostern 1965 legte ich in der Schillerschule meine Reifeprüfung ab und begann, mit dem Sommersemester 1965 an der Goethe-Universität in Frankfurt Medizin zu studieren. Nach zwei Semestern bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung, drei Semester darauf die ärztliche Vorprüfung. Zum Wintersemester 1967/68 immatrikulierte ich mich an der Universität des Saarlandes, medizinische Fakultät Homburg.
Am 15. September 1969 heiratete ich den damaligen Rechtsreferendar Franz Kirchberger und zog zu ihm nach Staffelstein in Oberfranken. Am 16. Dezember 1970 wurde unsere Tochter Katrin geboren.
Seit dem Wintersemester 1969/70 studierte ich an der

Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen, wo ich am 21. Juli 1971 das Staatsexamen ablegte.

Den Dienst als Medizinalassistentin begann ich am 16. August 1971 im Kreiskrankenhaus Staffelstein. Ich arbeite zur Zeit in der chirurgischen Abteilung.

Staffelstein, den 2o. 8. 1971

Ute Kirchberger